

BEST AVAILABLE COPY

Mod. C.E. - 1-47  
PCT/EP200 4/ 0 5 2 7 0 9

20.12.2004



# Ministero delle Attività Produttive

*Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività*

*Ufficio Italiano Brevetti e Marchi*

Ufficio G2

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:  
Invenzione Industriale N. FI2003 A 000275 del 29.10.2003

Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali  
depositati con la domanda di brevetto sopra specificata, i cui dati  
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

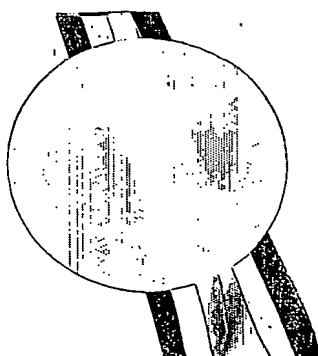


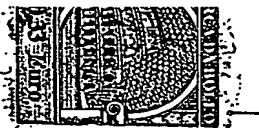
Roma, li. 2 AGO. 2004

IL FUNZIONARIO

*Elena Marinelli*

Sig.ra E. MARINELLI





## A. RICHIEDENTE/I

COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE	A1	INALCO S.P.A.		
NATURA GIURIDICA (PF/PG)	A2	PG	COD. FISCALE PARTITA IVA	A3 00861350155
LOCALITÀ DI RESIDENZA/STATO	A4	MILANO		
COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE	A1			
NATURA GIURIDICA (PF/PG)	A2		COD. FISCALE PARTITA IVA	A3
LOCALITÀ DI RESIDENZA/STATO	A4			
A. RECAPITO OBBLIGATORIO IN MANCANZA DI MANDATARIO	B0	(D = DOMICILIO ELETTIVO, R = RAPPRESENTANTE)		
COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE	B1			
INDIRIZZO	B2			
CAP/LOCALITÀ/PROVINCIA	B3			
C. TITOLO	C1	PROCESSO PER LA PREPARAZIONE DI GALATTOSIO.		

## D. INVENTORE/I DESIGNATO/I (DA INDICARE ANCHE SE L'INVENTORE COINCIDE CON IL RICHIEDENTE)

COGNOME E NOME	D1	CIPOLLETTI GIOVANNI
NAZIONALITÀ	D2	ITALIANA
COGNOME E NOME	D1	MANONI MARCO
NAZIONALITÀ	D2	ITALIANA
COGNOME E NOME	D1	VAGNOLI LUANA
NAZIONALITÀ	D2	ITALIANA
COGNOME E NOME	D1	GIACOMELLI SILVIA
NAZIONALITÀ	D2	ITALIANA



## E. CLASSE PROPOSTA

SEZIONE	CLASSE	SOTTOCLASSE	GRUPPO	SOTTOGRUPPO
E1 C	E2 08	E3 B	E4 37	E5 00K

## F. PRIORITÀ

DERIVANTE DA PRECEDENTE DEPOSITO ESEGUITO ALL'ESTERO

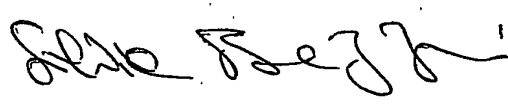
STATO O ORGANIZZAZIONE	F1		TIPO	F2	
NUMERO DI DOMANDA	F3		DATA DEPOSITO	F4	
STATO O ORGANIZZAZIONE	F1		TIPO	F2	
NUMERO DI DOMANDA	F3		DATA DEPOSITO	F4	
G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICROORGANISMI	G1				
FIRMA DEL/DEI RICHIEDENTE/I	NOTARBARTOLO & GERVAZI S.P.A. <i>Gerla Bezz</i>				

**I. MANDATARIO DEL RICHIEDENTE PRESSO L'UIBM**

LA/E SOTTOINDICATA/E PERSONA/E HA/HANNO ASSUNTO IL MANDATO A RAPPRESENTARE IL TITOLARE DELLA PRESENTE DOMANDA DINNANZI ALL'UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI CON L'INCARICO DI EFFETTUARE TUTTI GLI ATTI AD ESSA CONNESSI (DPR 20.10.1998 N. 403).

NUMERO ISCRIZIONE ALBO COGNOME E NOME;	I1	BRAZZINI SILVIA
DENOMINAZIONE STUDIO	I2	NOTARBARTOLO & GERVASI S.P.A.
INDIRIZZO	I3	LUNGARNO AMERIGO VESPUCCI, 24
CAP/LOCALITÀ/PROVINCIA	I4	50123 - FIRENZE
L. ANNOTAZIONI SPECIALI	L1	NESSUNA

**M. DOCUMENTAZIONE ALLEGATA O CON RISERVA DI PRESENTAZIONE**

TIPO DOCUMENTO	N. ES. ALL.	N. ES. RIS.	N. PAG. PER ESEMPLARE
PROSPETTO A, DESCRIZ., RIVENDICAZ. (OBBLIGATORI 2 ESEMPLARI)	1		16
DISEGNI (OBBLIGATORI SE CITATI IN DESCRIZIONE, 2 ESEMPLARI)	0		00
DESIGNAZIONE D'INVENTORE	0		
DOCUMENTI DI PRIORITÀ CON TRADUZIONE IN ITALIANO	0		
AUTORIZZAZIONE O ATTO DI CESSIONE	0		
	(SI/NO)		
LETTERA D'INCARICO	SI		
PROCURA GENERALE	NO		
RIFERIMENTO A PROCURA GENERALE	NO		
	(LIRE/EURO)		
ATTESTATI DI VERSAMENTO	€	CENTOTTANTOTTO/51=	
FOGLIO AGGIUNTIVO PER I SEGUENTI PARAGRAFI (BARRARE I PRESCELTI) DEL PRESENTE ATTO SI CHIEDE COPIA AUTENTICA? (SI/NO)	A	D	1 F
SI CONCEDE ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO? (SI/NO)	SI		
	NO		
DATA DI COMPILAZIONE	29/10/2003		
FIRMA DEL/DEI RICHIEDENTE/I	NOTARBARTOLO & GERVASI S.P.A. 		

**VERBALE DI DEPOSITO**

NUMERO DI DOMANDA	FI 2003A 000275		COD.	48
C.C.I.A.A. DI	FIRENZE			
IN DATA	29/10/2003	IL/I RICHIEDENTE/I SOPRAINDICATO/I HA/HANNO PRESENTATO A ME		
LA PRESENTE DOMANDA CORREDATA DI N.	01	FOGLI AGGIUNTIVI PER LA CONCESSIONE DEL BREVETTO SOPRARIPORTATO.		
N. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE				
IL DEPOSITANTE			L'UFFICIALE ROGANTE	



## DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE N°

FOGLIO AGGIUNTIVO N.

01

I TOTALI:

01

## A. RICHIEDENTE/I

COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE	A1			
NATURA GIURIDICA (PF/PG)	A2	COD. FISCALE PARTITA IVA	A3	
LOCALITÀ DI RESIDENZA/STATO	A4			
COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE	A1			
NATURA GIURIDICA (PF/PG)	A2	COD. FISCALE PARTITA IVA	A3	
LOCALITÀ DI RESIDENZA/STATO	A4			
COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE	A1			
NATURA GIURIDICA (PF/PG)	A2	COD. FISCALE PARTITA IVA	A3	
LOCALITÀ DI RESIDENZA/STATO	A4			

## B. INVENTORE/I DESIGNATO/I

COGNOME E NOME	D1	BIAGIOLINI SILVIA
NAZIONALITÀ	D2	ITALIANA
COGNOME E NOME	D1	PRATESI CRISTINA
NAZIONALITÀ	D2	ITALIANA
COGNOME E NOME	D1	CAMICI LUCIA
NAZIONALITÀ	D2	ITALIANA
COGNOME E NOME	D1	
NAZIONALITÀ	D2	
COGNOME E NOME	D1	
NAZIONALITÀ	D2	
COGNOME E NOME	D1	
NAZIONALITÀ	D2	

## F. PRIORITÀ

DERIVANTE DA PRECEDENTE DEPOSITO ESEGUITO ALL'ESTERO

STATO O ORGANIZZAZIONE	F1		TIPO	F2	
NUMERO DI DOMANDA	F3		DATA DEPOSITO	F4	
STATO O ORGANIZZAZIONE	F1		TIPO	F2	
NUMERO DI DOMANDA	F3		DATA DEPOSITO	F4	
STATO O ORGANIZZAZIONE	F1		TIPO	F2	
NUMERO DI DOMANDA	F3		DATA DEPOSITO	F4	
FIRMA DEL/DEI RICHIEDENTE/I	NOTARBARTOLO & GERVAZI S.P.A.				



**PROSPETTO MODULO A**  
**DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE**

NUMERO DI DOMANDA: **FI 2003A 000275**

DATA DI DEPOSITO: **29 OTT. 2003**

**A. RICHIEDENTE/I** COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE, RESIDENZA O STATO

**INALCO S.P.A.**

**C. TITOLO**

Processo per la preparazione di galattosio.

SEZIONE

CLASSE

SOTTOCLASSE

GRUPPO

SOTTOGRUPPO

**C**

**08**

**B**

**37**

**00K**

**E. CLASSE PROPOSTA**

**D. RIASSUNTO**

E' DESCRITTO UN PROCESSO PER LA PREPARAZIONE DI GALATTOSIO DI ELEVATA PUREZZA, COMPRENDENTE L'INOCULO DI QUALSIASI TIPO DI SOLUZIONE CHE CONTENGA LATTOSIO, COMPRESO IL SIERO DI LATTE CHE NON ABBA SUBITO ALCUN TIPO DI TRATTAMENTO PRELIMINARE E/O DI PURIFICAZIONE, CON MICRORGANISMI NON MODIFICATI, COMUNEMENTE USATI NELL'INDUSTRIA LATTIERO-CASEARIA.

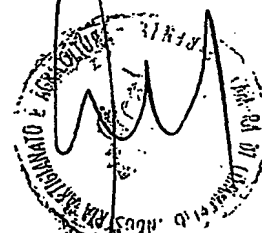
**P. DISEGNO PRINCIPALE**



FIRMA DEL/DEI  
RICHIEDENTE/I

NOTAR BARTOLO & GERVASI S.P.A.

*[Handwritten signature]*



Descrizione dell'invenzione industriale dal titolo :

FI 2003A 000275

"Processo per la preparazione di galattosio"

Titolare : INALCO S.p.A.

Con sede in : MILANO

Inventori designati : Giovanni CIPOLLETTI, Marco MANONI, Luana VAGNOLI, Silvia GIACOMELLI, Silvia BIAGIOLINI, Cristina PRATESI, Lucia CAMICI

Depositata il . con il n°

\* \* \* \* \*

#### CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce al campo dei processi per la produzione di zuccheri semplici, ed in particolare ad un processo per la preparazione di galattosio.

#### STATO DELL'ARTE

Il galattosio è uno dei due zuccheri semplici che costituiscono la molecola di lattosio; esso è utilizzato sia nell'industria alimentare come dolcificante sia come intermedio in molte sintesi chimiche.

E' nota la produzione di galattosio a partire dal lattosio contenuto nel latte e nei suoi derivati, sia per idrolisi enzimatica che chimica.

In entrambi questi processi, per ottenere il prodotto finale con buone rese è necessario effettuare una preliminare rimozione della porzione proteica presente nel latte, ad esempio mediante uno o più stadi di ultrafiltrazione, come descritto nella Domanda di Brevetto Europeo N. 168 127, oppure per precipitazione a caldo delle proteine in ambiente acido.

Anche nel Brevetto Statunitense N. 3,981,773, che descrive un processo per la preparazione di galattosio mediante inoculo di una soluzione contenente lattosio con specifici lieviti o batteri, si evidenzia la necessità di rimuovere le proteine prima della fermentazione. Secondo quanto riportato in questo brevetto, inoltre, non possono essere utilizzati microrganismi qualsiasi per condurre la fermentazione, ma vengono appositamente selezionati alcuni lieviti o batteri modificati. Sempre secondo US 3,981,773 nel caso siano utilizzati i suddetti batteri modificati, è necessario estrarre il galattosio dai residui di fermentazione per concentrazione della soluzione di galattosio ottenuta, con una o più cristallizzazioni, precedute da un passaggio su carbone attivo o da estrazione della soluzione con etanolo.

Sia nei processi di idrolisi chimica che in quelli di idrolisi enzimatica è inoltre necessario allontanare il glucosio, utilizzando vari tipi di microrganismi, ad esempio lieviti appartenenti al genere *Saccaromyces*, oppure operando ancora per via enzimatica con l'enzima glucosio-ossidasi che converte il glucosio ad acido gluconico.

I principali limiti dei processi noti sopra descritti sono di natura economica: la necessità di utilizzare enzimi in uno o più stadi del processo fa aumentare notevolmente i costi di produzione, così come l'esigenza di purificare il materiale di partenza. L'attuazione del processo direttamente sul siero di latte risulta infatti difficoltosa sia nel caso della via chimica che di quella enzimatica. Da una parte, la via chimica prevede l'impiego di acidi forti ad alte temperature, il che è causa della formazione di sostanze colorate carboniose, che derivano dalla

degradazione termica della sostanza organica; d'altra parte, nella via enzimatica, la presenza in sospensione di materiale di varia natura, diminuisce l'efficienza dell'enzima.

E' pertanto tuttora sentita l'esigenza di disporre di un processo di preparazione di galattosio che non presenti gli svantaggi sopra descritti per i processi noti, e consenta di ottenere galattosio con un elevato grado di purezza, direttamente utilizzabile nell'industria alimentare e nelle sintesi chimiche, senza bisogno di effettuare complessi procedimenti di purificazione.

#### SOMMARIO DELL'INVENZIONE

Ora la Richiedente ha sorprendentemente trovato che è possibile ottenere galattosio di elevata purezza inoculando qualsiasi tipo di soluzione contenente lattosio derivante dal latte o con caratteristiche simili ad esso, compreso il siero di latte che non abbia subito alcun tipo di trattamento preliminare e di purificazione, con microrganismi non modificati comunemente usati nell'industria lattiero-casearia.

Rappresenta pertanto oggetto dell'invenzione un processo per la preparazione di galattosio a partire da una soluzione contenente lattosio, comprendente i seguenti stadi:

- i) inoculo della soluzione contenente lattosio con microrganismi non modificati in grado di idrolizzare il lattosio per dare galattosio e glucosio, e di consumare il glucosio così formato;
- ii) fermentazione della soluzione proveniente dallo stadio i);
- iii) recupero della soluzione di galattosio desiderata dal prodotto della fermentazione allo stadio ii).



Ulteriore oggetto dell'invenzione è un metodo per lo smaltimento del siero di latte proveniente dall'industria lattiero-casearia, comprendente l'inoculo del siero con microrganismi non modificati in grado di idrolizzare il lattosio per dare galattosio e glucosio e di consumare il glucosio così formato; seguito da fermentazione e recupero di una soluzione di galattosio dal prodotto della fermentazione, secondo il suddetto processo.

Caratteristiche e vantaggi della presente invenzione saranno illustrati in dettaglio nella seguente descrizione.

#### DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Il processo secondo l'invenzione può essere applicato con successo a qualsiasi soluzione comprendente lattosio, ad esempio al siero di latte, al latte o al siero spruzzato in polvere ricostituito con acqua.

Il presente processo si applica anche a sieri impoveriti del contenuto in lattosio, allontanato per cristallizzazione e successiva centrifugazione; il contenuto in lattosio della soluzione è preferibilmente compreso tra il 2,5 e l'11% in peso rispetto al peso totale della soluzione; risultati ottimali si sono ottenuti quando il lattosio è presente in quantità compresa tra il 3 e l'8% in peso.

Secondo una particolare forma di realizzazione dell'invenzione, la soluzione di partenza, se necessario, è portata a pH  $\leq 7,5$ , e preferibilmente a pH compreso tra 5,0 e 7,5, mediante aggiunta di una base, forte o debole, di origine preferibilmente inorganica, scelta ad esempio nel gruppo costituito da idrossido di sodio, idrossido di potassio, idrossido di calcio, ossido di magnesio, carbonato di calcio e



ammoniaca; la sospensione così ottenuta viene quindi pastorizzata per eliminare eventuali cariche microbiche antagoniste a quella del fermento che verrà inoculato allo stadio i) del presente processo.

Dopo l'eventuale pastorizzazione, la temperatura della soluzione è lasciata abbassare ad una temperatura tipicamente compresa tra 25 e 50°C, temperatura alla quale è effettuato l'inoculo ed è condotta la fermentazione; preferibilmente, la temperatura è lasciata abbassare fino a raggiungere un valore compreso nell'intervallo tra 37 e 45°C.

Qualsiasi microrganismo non modificato in grado di idrolizzare il lattosio per dare galattosio e glucosio, e di consumare il glucosio così formato, può essere utilizzato efficacemente nel presente processo. Di possibile uso sono ad esempio i microrganismi naturali utilizzati nell'industria lattiero-casearia, e comunemente denominati fermenti lattici o fermenti dello yogurt.

Qualsiasi composizione comprendente tali microrganismi è inoltre da intendersi compresa negli scopi della presente invenzione.

Secondo una particolare forma di realizzazione dell'invenzione, il processo comprende la fermentazione della soluzione contenente lattosio con batteri appartenenti alla famiglia delle Lactobacillaceae o composizioni che li contengono.

Nell'ambito della presente invenzione, con l'espressione "famiglia delle Lactobacillaceae" si intende la famiglia così denominata secondo la classificazione riportata in *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7<sup>th</sup> Ed., 1957.

Tra i batteri appartenenti alla famiglia delle Lactobacillaceae, i batteri appartenenti ai generi *Streptococcus* e *Lactobacillus* e le loro miscele, sono preferiti per l'inoculo della soluzione di lattosio allo stadio i) del presente processo. Esempi di tali batteri sono i batteri appartenenti ai ceppi batterici scelti nel gruppo costituito da *Streptococcus Thermophilus*, *Lactobacillus Bulgaricus*, *Lactobacillus Casei*, e loro miscele.

La Richiedente ha verificato che per ottenere il maggior consumo di glucosio proveniente dall'idrolisi del lattosio, senza che importanti quantità di galattosio vengano consumate dai batteri, è preferibile che lo stadio ii) di fermentazione sia condotto mantenendo il pH costante ad un valore  $\leq 7,5$ , e preferibilmente a pH compreso tra 5,0 e 7,5, per un tempo compreso tra 16 e 24 ore. Se necessario, per abbassare ulteriormente la concentrazione di lattosio mantenendo pressoché inalterata la quantità di galattosio formatosi, a questa prima fase di fermentazione a pH costante, segue una seconda fase in cui il pH è lasciato abbassare spontaneamente per azione della formazione dell'acido lattico dovuta alla ulteriore fermentazione, per un tempo compreso tra 5 e 60 ore. Durante la fermentazione, la sospensione è tipicamente mantenuta sotto una costante agitazione.

Nella fase di fermentazione a pH costante, il valore di pH può essere mantenuto nell'intervallo preferito mediante aggiunta di una base, debole o forte, preferibilmente inorganica, scelta ad esempio tra le basi inorganiche sopra menzionate.

Al termine dello stadio di fermentazione, prima di mettere in atto lo stadio iii), può essere eventualmente effettuata una seconda pastorizzazione, condotta come la precedente secondo le comuni procedure note a qualsiasi esperto del ramo.

Il recupero della soluzione di galattosio desiderata dal prodotto della fermentazione allo stadio ii), viene effettuato mediante rimozione della biomassa, costituita da grasso, proteine denaturate e non provenienti dal siero e dalle cellule batteriche provenienti dalla fermentazione, per centrifugazione e/o ultrafiltrazione.

Secondo una particolare forma di realizzazione del presente processo, dopo aver rimosso la biomassa, la soluzione ottenuta, limpida e di colore giallo, viene deionizzata mediante elettrodialisi fino ad una conducibilità di 6-0,5 ms e successivo passaggio su colonna con resine a scambio ionico formate da una cationica forte in forma  $H^+$  ed una anionica debole in forma  $OH^-$ , dove la conducibilità è ulteriormente abbassata a 10-100  $\mu s$ . La soluzione così ottenuta può essere quindi microfiltrata ad esempio con membrana 0,1 – 0,8  $\mu m$ .

Dopo l'allontanamento dei sali dalla soluzione così ottenuta può essere rimossa l'acqua (ad esempio mediante osmosi inversa, oppure per distillazione a pressione ridotta) fino ad ottenere uno sciroppo con la concentrazione di galattosio desiderata, oppure il galattosio può essere cristallizzato, da soluzioni sufficientemente concentrate, secondo le comuni procedure note a qualsiasi esperto del ramo.

Le soluzioni di galattosio ottenute con il presente processo hanno un contenuto di galattosio intorno al 90% in peso rispetto al peso totale della

sostanza secca che si trova in soluzione, un contenuto di lattosio inferiore al 10% ed una quantità trascurabile di galattosilgalattosidi; potranno pertanto essere utilizzate direttamente come dolcificante nelle bevande a base di galattosio e in altre preparazioni alimentari, così come potranno essere usate per ottenere, con ottime rese di cristallizzazione, galattosio puro da usare ad esempio come intermedio di sintesi in svariati processi chimici.

Oltre a ciò, il presente processo ha il vantaggio di non richiedere la preliminare rimozione della porzione proteica per avere delle migliori rese del prodotto finale, né di richiedere la rimozione del glucosio che viene direttamente consumato dai microrganismi impiegati nella fermentazione.

Il processo dell'invenzione presenta inoltre il vantaggio di poter essere applicato con successo anche al siero proveniente direttamente dall'industria lattiero-casearia, senza che questo abbia subito nessun trattamento di purificazione.

Quest'ultimo aspetto vantaggioso del processo dell'invenzione fa sì che esso possa essere sfruttato anche come metodo di smaltimento del siero di latte, un inquinante di difficile eliminazione per le industrie lattiero-casearie.

I seguenti esempi sono riportati a titolo illustrativo e non limitativo della presente invenzione.

#### ESEMPIO 1



3 l di siero fresco di latte contenenti il 3,5% di lattosio vengono pastorizzati a 90°C, quindi vengono termostatati a 37°C e portati a pH=7 con NaOH al 30%.

Si inocula con ceppi di *Streptococcus Thermophilus*, *Lactobacillus Bulgaricus* e *Lactobacillus Casei* in miscela e dopo 18 ore sotto agitazione, durante le quali è stato mantenuto il pH=7 con NaOH al 30%, si interrompe la somministrazione della base e si lascia in acidificazione spontanea. Trascorse altre 8 ore si ha una quantità di lattosio pari allo 0,13% ed una quantità di galattosio pari all'1,34% in peso.

Dopo aver pastorizzato a 90°C si allontana la biomassa per centrifugazione e successiva ultrafiltrazione. L'ultrafiltrato viene quindi demineralizzato per elettrodialisi e passaggio su resine a scambio ionico. La soluzione può essere eventualmente decolorata su carbone, microfiltrata ed infine concentrata a sciroppo.

## ESEMPIO 2

Il materiale di partenza è siero di latte in polvere spruzzato che viene ricostituito con H<sub>2</sub>O demineralizzata fino ad avere 2000 g di una sospensione al 5,5% di lattosio.

Il mezzo di fermentazione così ottenuto è stato pastorizzato a 90°C, quindi termostatato a 40°C e portato a pH=6,5 con NH<sub>3</sub> al 7,5%.

Si inocula con ceppi di *Streptococcus Thermophilus* e si lascia in lenta agitazione mantenendo il pH costante a 6,5 sempre con NH<sub>3</sub> al 7,5%.

Trascorse 21 ore, il lattosio è lo 0,28% e il galattosio è il 2,30%.

Il brodo di coltura viene nuovamente pastorizzato a 90°C e la biomassa allontanata per centrifugazione e successiva ultrafiltrazione. Il

centrifugato viene sottoposto a elettrodialisi: la demineralizzazione viene quindi completata su resine a scambio ionico (cationica forte e anionica debole).

Dopo eventuale decolorazione si evapora  $H_2O$  fino a raggiungere una concentrazione di 65° Brix per cristallizzare il galattosio secondo le consuete metodiche: si ottiene così galattosio cristallino con una purezza del 99%, per un peso di 31 g, pari all'82% dello zucchero presente nella soluzione prima della concentrazione.

### ESEMPIO 3

4,5 l di siero fresco contenente il 3,4% in peso di lattosio vengono pastorizzati a 80°C, quindi termostatati a 45°C.

Si porta il pH=6,8 con KOH al 40% e si inocula con il prodotto commerciale Actimel®, contenente fermenti dello yogurt.

Manteniamo il pH=6,8 con KOH al 40% per 24 ore, dopo di che si pastorizza a 80°C per ottenere un fermentato che contiene lo 0,04% di lattosio e l'1,04% in peso di galattosio.

Si allontana quindi la biomassa per centrifugazione e successiva ultrafiltrazione. L'ultrafiltrato viene quindi demineralizzato per passaggio su resine a scambio ionico.

La soluzione può essere eventualmente decolorata su carbone, microfiltrata ed infine concentrata a sciroppo.

### ESEMPIO 4

Siero di latte in polvere viene ricostituito in  $H_2O$  demineralizzata ottenendo 10.700 kg di una sospensione che contiene il 7,34% in peso di lattosio.

Il mezzo di fermentazione così preparato viene pastorizzato a 80°C, termostato a 40°C e portato a pH=7 con NaOH al 30%.

L'inoculo viene effettuato con una miscela di ceppi di *Streptococcus Thermophilus* e *Lactobacillus Bulgaricus*. Dopo 18 ore in lenta agitazione mantenendo il pH=7 mediante aggiunta di NaOH al 30% viene interrotta la somministrazione di base e il pH del mezzo scende spontaneamente. Trascorse 10 ore in acidificazione si pastorizza a 80°C: il lattosio è lo 0,23% e il galattosio l'2,95% in peso.

La biomassa viene allontanata per ultrafiltrazione; sull'ultrafiltrato la completa demineralizzazione si realizza su resine a scambio ionico (cationica forte e anionica debole).

Da questa soluzione, dopo eventuale decolorazione, si rimuove H<sub>2</sub>O fino ad arrivare ad uno sciroppo che abbia la concentrazione desiderata, e che può essere microfiltrata, in cui il galattosio ha una purezza dell'89%.



## RIVENDICAZIONI

1. Processo per la preparazione di galattosio a partire da una soluzione contenente lattosio, comprendente i seguenti stadi:
  - i) inoculo della soluzione contenente lattosio con microrganismi non modificati in grado di idrolizzare il lattosio per dare galattosio e glucosio, e di consumare il glucosio così formato, o con composizioni che li comprendono;
  - ii) fermentazione della soluzione proveniente dallo stadio i);
  - iii) recupero della soluzione di galattosio desiderata dal prodotto della fermentazione allo stadio ii).
2. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui detta soluzione contenente lattosio è scelta nel gruppo costituito da siero di latte, latte, siero di latte spruzzato in polvere ricostituito con acqua o siero di latte impoverito per parziale recupero di lattosio o di proteine del latte.
3. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui detta soluzione contenente lattosio ha un contenuto in lattosio compreso tra 2,5 e 11% in peso rispetto al peso totale della soluzione.
4. Processo secondo la rivendicazione 3, in cui detta soluzione contenente lattosio ha un contenuto in lattosio compreso tra 3 e 8% in peso rispetto al peso totale della soluzione.
5. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui detti microrganismi non modificati allo stadio i) sono scelti tra fermenti lattici e fermenti dello yogurt.



6. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui detti microrganismi non modificati allo stadio i) sono scelti tra i batteri appartenenti alla famiglia delle *Lactobacillaceae*.
7. Processo secondo la rivendicazione 6, in cui detti batteri appartenenti alla famiglia delle *Lactobacillaceae* sono batteri appartenenti a ceppi batterici scelti nel gruppo costituito da *Streptococcus*, *Lactobacillus* e loro miscele.
8. Processo secondo la rivendicazione 7, in cui detti batteri sono scelti nel gruppo costituito dalle specie *Streptococcus Thermophilus*, *Lactobacillus Bulgaricus*, *Lactobacillus Casei*, e loro miscele.
9. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui detta fermentazione allo stadio ii) viene condotta mantenendo il pH costante ad un valore  $\leq 7,5$  per un tempo compreso tra 16 e 24 ore.
9. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui detta fermentazione allo stadio ii) viene condotta mantenendo costante il pH ad un valore  $\leq 7,5$  per un tempo compreso tra 16 e 24 ore, e lasciando poi abbassare spontaneamente il pH per un tempo compreso tra 5 e 60 ore.
10. Processo secondo la rivendicazione 8 o 9, in cui detto valore costante di pH è compreso tra 5,0 e 7,5.
11. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui detta fermentazione allo stadio ii) viene condotta ad una temperatura compresa tra 25 e 50°C.
12. Processo secondo la rivendicazione 11, in cui detta fermentazione allo stadio ii) viene condotta ad una temperatura compresa tra 37 e 45°C.

13. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui detta soluzione comprendente lattosio, prima di essere sottoposta all'inoculo allo stadio

i), se necessario, viene portata a  $\text{pH} \leq 7,5$ .

14. Processo secondo la rivendicazione 13, in cui detta soluzione comprendente lattosio, prima di essere sottoposta all'inoculo allo stadio

i), viene portata a  $\text{pH}$  compreso tra 5,0 e 7,5.

15. Processo secondo le rivendicazioni 9 o 13, in cui detto valore di  $\text{pH} \leq 7,5$  è ottenuto per aggiunta di una base, forte o debole, di origine

inorganica.

16. Processo secondo la rivendicazione 15, in cui detta base di origine inorganica è scelta nel gruppo costituito da idrossido di sodio, idrossido di potassio, idrossido di calcio, ossido di magnesio, carbonato di calcio e ammoniaca.

17. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui il recupero della soluzione di galattosio dal prodotto della fermentazione allo stadio ii), viene effettuato mediante rimozione della biomassa per centrifugazione, e/o ultrafiltrazione, per ottenere una soluzione che viene eventualmente concentrata a caldo sottovuoto per rimuovere l'acqua ed ottenere una soluzione di galattosio della concentrazione desiderata.

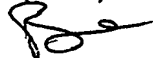
18. Processo secondo la rivendicazione 17, in cui dopo la rimozione della biomassa, la soluzione così ottenuta viene deionizzata mediante elettrodialisi e successivo passaggio su colonna a scambio ionico, e microfiltrata.

19. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui detta soluzione comprendente lattosio, prima di essere sottoposta all'inoculo allo stadio

i), e/o al termine della fermentazione allo stadio ii), viene sottoposta a pastorizzazione.

20. Metodo per lo smaltimento del siero di latte proveniente dall'industria lattiero-casearia contenente almeno il 2,5% in peso di lattosio rispetto al peso totale, comprendente l'inoculo del siero con microrganismi non modificati in grado di idrolizzare il lattosio per dare galattosio e glucosio e di consumare il glucosio così formato; seguito da fermentazione e recupero di una soluzione di galattosio dal prodotto della fermentazione.

(BRA)



Firenze, 28 Ottobre 2003

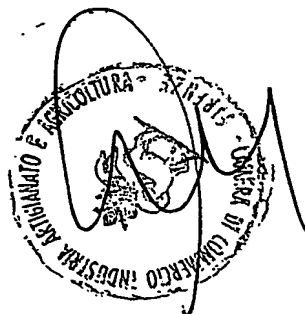
p. INALCO S.p.A.

il Mandatario



Dr.ssa Silvia Brazzini

della NOTARBARTOLO & GERVASI S.p.A.





# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP04/052709

International filing date: 28 October 2004 (28.10.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: IT  
Number: FI2003A000275  
Filing date: 29 October 2003 (29.10.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 24 January 2005 (24.01.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: \_\_\_\_\_**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**